



Leonora Houet¹, Fabian Seiler¹, Luis Meister¹, Susanne Hammes¹, Miriam Schmidts^{1,2}, Daniel Böhringer^{1,3}, Janbernd Kirschner^{1,4}, B-Zentren des FZSE¹, Katalin Komlosi^{1,5}

¹Freiburg Zentrum für Seltene Erkrankungen, Universitätsklinikum Freiburg, ²Sektion Pädiatrische Genetik, Zentrum für Kinderheilkunde und Jugendmedizin, Universitätsklinikum Freiburg, ³Klinik für Augenheilkunde, Universitätsklinikum Freiburg, ⁴Klinik für Neuropädiatrie und Muskelerkrankungen, Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin, Universitätsklinikum Freiburg, ⁵Institut für Humangenetik, Universitätsklinikum Freiburg, Medizinische Fakultät, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg

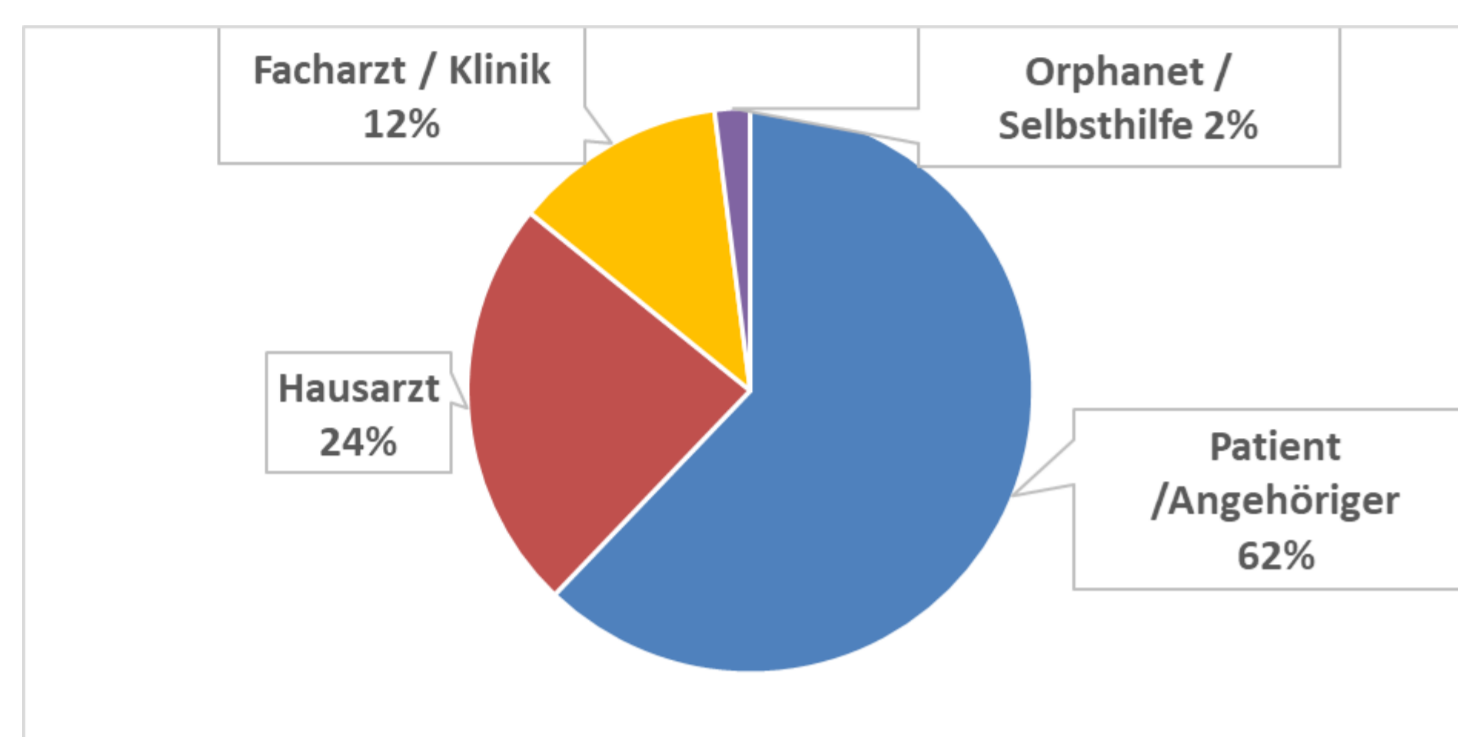
Struktur & Funktion:

- Gründung 2009 & seit 2018 im Landeskrankenhausplan Baden-Württemberg
- koordinierendes A-Zentrum und 14 B-Zentren
- seit Januar 2023 zertifiziertes Referenzzentrum für Seltene Erkrankungen (Typ A Zentrum nach NAMSE)
- Koordination von drei DRNs und Mitglied von zehn ERNs
- Mitgliedschaft Kompetenzzentrum Seltene Erkrankungen Baden-Württemberg
- Zentrumsratschaft Nils Frommhold (Profi-Triathlet) seit 08/2022
- monatliche Fortbildungen zu Seltene Erkrankungen sowie Fachsymposia in diversen Fachrichtungen
- Teilnahme am Selektivvertrag für Exomdiagnostik: ZSE mit Indikationsstellung

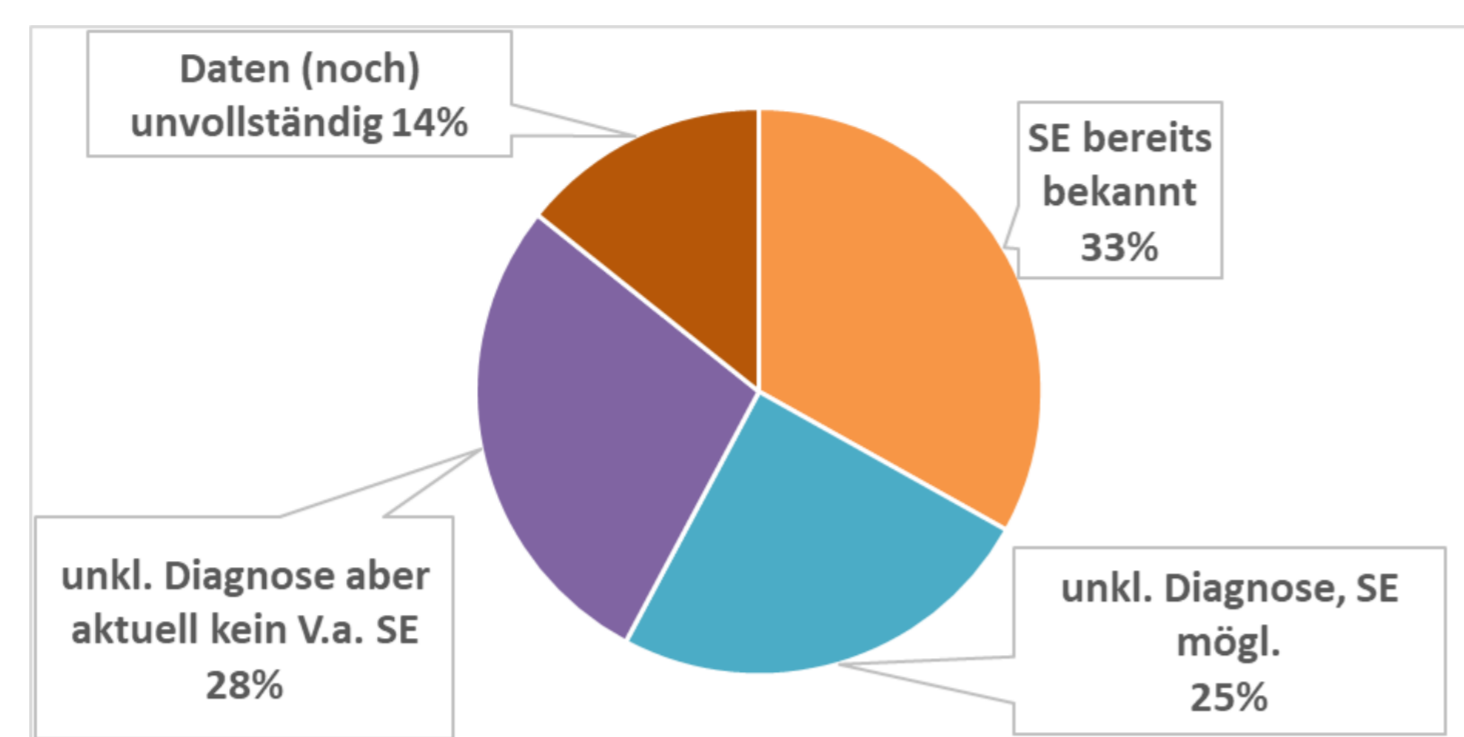
Zahlen 2022:

- 149 Anfragen an das A-Zentrum FZSE (mehrheitlich Erwachsene (86%); pädiatrische Anfragen gehen i.d.R. direkt an pädiatrische B-Zentren mit spezieller Abteilung für Diagnostik für SE)

Pat.-Zuweisung an A-Zentrum FZSE



Diagnosestatus bei Anfrage



- **Indikationsstellung und Überblick molekulargenetische Diagnostik (A-Zentrums-Patient*innen)**
- Nach interner Fallbesprechung wurden bei 67.5% der Pat. (Fokus: Erwachsene) mit ausführlichen Vorbefunden und V.a. SE die Indikation zur weiterführenden molekulargenetischen Diagnostik gestellt
- **Ergebnisse der molekulargenetischen Diagnostik:**
 - In 36% molekulargenetische Diagnosesicherung einer SE
 - In 59% genetische Diagnostik ohne Hinweis auf eine pathogene Variante
 - In 5% erfolgten noch weitere Nachuntersuchungen
- Häufigste genetisch gesicherte Diagnosen (Fokus Erwachsene Pat.) beinhalten Erkrankungen aus der Gruppe der monogenen Bindegewebserkrankungen sowie versch. Knochenstoffwechselstörungen (jeweils ca. 40%)
- bei einer Patientin mit chronischer unklarer Lymphabflussstörung wurde ein seltener benigner Tumor histologisch gesichert
- Der Mehrwert von interdisziplinären Fallkonferenzen in Verbindung mit Indikationsstellung zur humangenetischen Diagnostik wird anhand von Fallbeispielen veranschaulicht



Fallbeispiel 1: Patientin (53) mit Belastungsintoleranz, DM, Marklagerläsionen, „V.a. Autoimmunkr.“

Anfrage durch FA: Hinweis für SE?

Vorbefunde:

- Belastungsintoleranz, Diabetes mellitus (Insulinpflichtig), multiple Marklagerläsionen (initial V.a. chron.-entz. ZNS-Erkr.), V.a. beginnende Polyneuropathie, asymptomatische Proteinurie, unklare Magen-Darm-Beschwerden, Schluckbeschwerden, unklare Autoimmunbeschwerden (V.a. Kollagenose / SLE, unklare Hepatopathie, M. Crohn), Hypercholesterinämie Typ IIa, schlechte Medikamentenverträglichkeit; keine kardialen Beschwerden (Echo unauffällig)

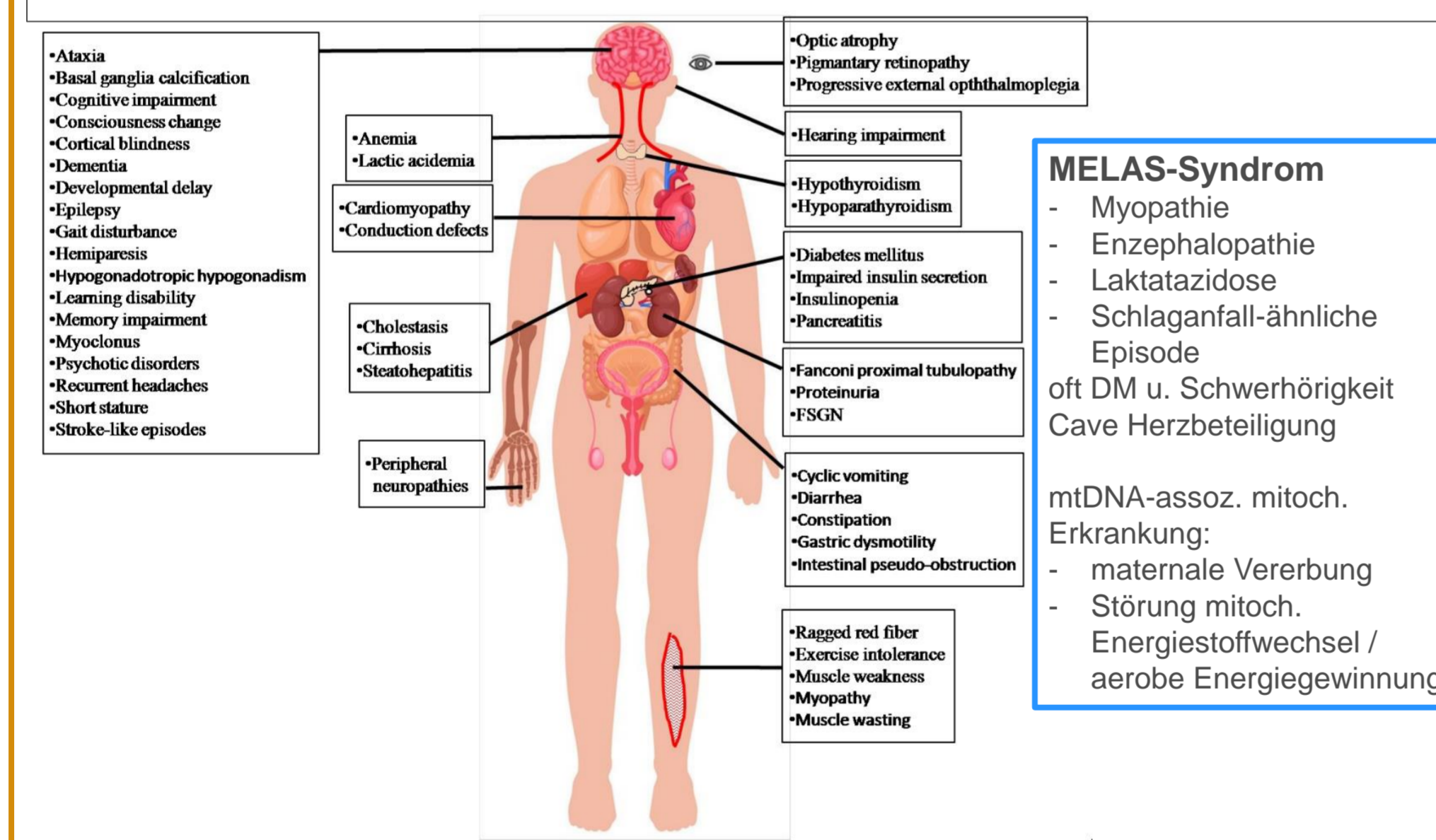
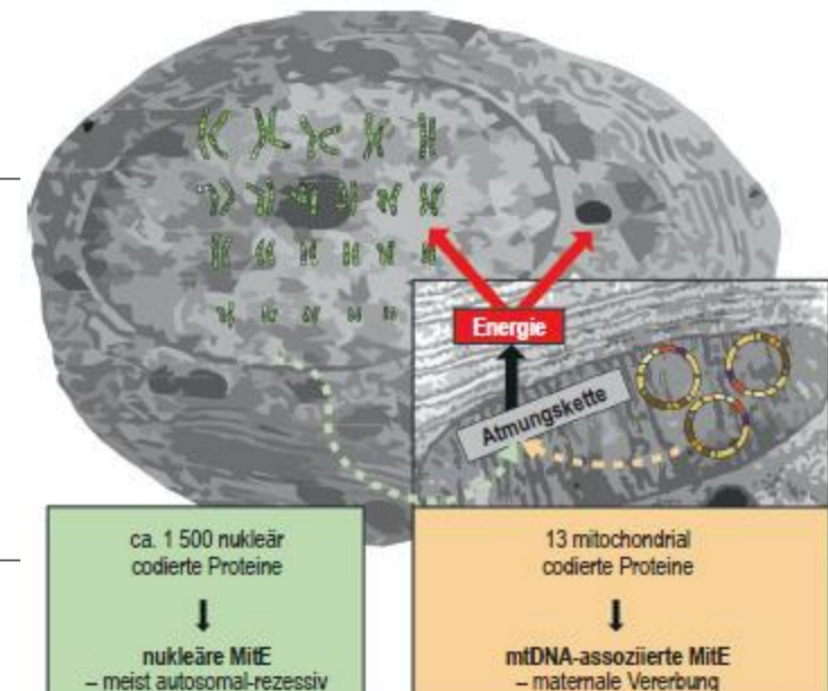
Familienanamnese: Tochter: Belastungsintoleranz, Diabetes mellitus (MODY 3) seit 18 Lj.; Mutter: KHK im Alter von 93 J., Bruder: rasch progrediente Schwerhörigkeit, Diabetes mellitus

Vorbefunde / bisherige gen. Diagnostik: Glykogenspeicherkrankheit, Defekt des Glukosetransporters GLUT1, MODY Typ3, CADASIL (Marklagerläsion), M. Crohn: unauffällig

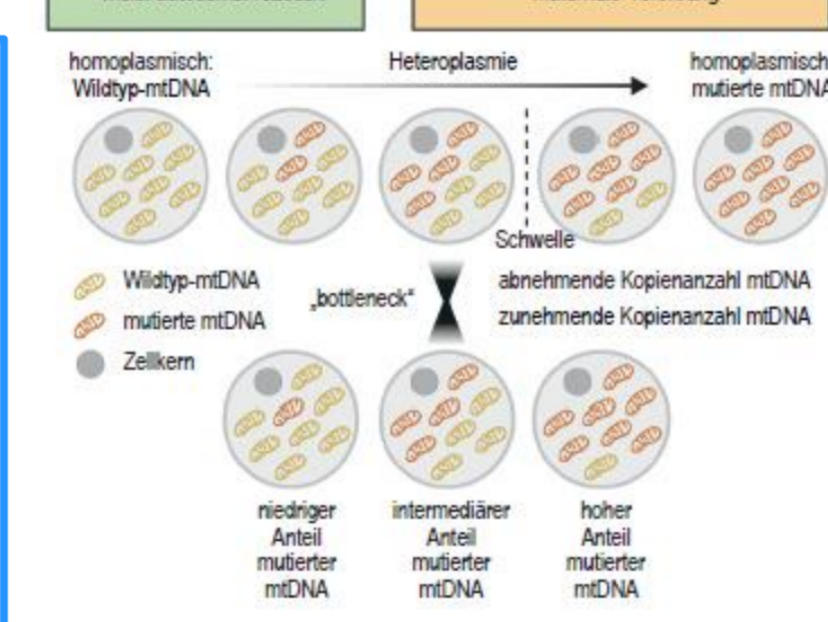
Fallbesprechung (FZSE, Stoffwechsellabor, Humangenetik, Rheumatologie): ausgeprägte Belastungsintoleranz > V.a. Mitochondriopathie >> DD MELAS-Syndrom

Ergebnis molekulargenetischer Diagnostik (DNA aus Blut und Mundschleimhaut): Nachweis der heteroplasmischen pathogenen Variante m.3243A>G im *MT-TL1* Gen; Heteroplasmiegrad in der DNA aus Blut betrug ca. 7% und ca. 14% in der DNA aus Mundschleimhaut; die gefundene pathogene Variante wird in 80% der Pat. mit MELAS-Syndrom nachgewiesen

Molekulargenetische Bestätigung MELAS auch bei Tochter: Heteroplasmiegrad im Blut 24-32% und ca. 37-43% in der Mundschleimhaut



Fan, H.-C. et al. Clinical Characteristics of Mitochondrial Encephalomyopathy, Lactic Acidosis, and Stroke-Like Episodes. *Life* 2021, 11, 1111.



Die mitochondriale DNA (mtDNA) codiert nur für 13 Proteine der mitochondrialen Atmungskette. Inzident sind für Struktur und Funktion der Mitochondrien ca. 1500 Proteine notwendig, die überwiegend im Zellkern auf den Chromosomen codiert sind. Entsprechend werden Erbinformationen, die auf Mitochondrien codierter Gene zuzuschreiben sind, nach Mendelschen Regeln vererbt, meist autosomal rezessiv. Erkrankungen, die durch Mutationen der mtDNA verursacht sind, werden dagegen maternal vererbt. Meist tragen nicht alle mtDNA-Moleküle die Mutation und es liegt ein Gemisch aus mutierter und Wildtyp-mtDNA vor (heteroplasmie). Eine zelluläre Dysfunktion entsteht meist ab einer Schwelle von ca. 60% mutierter mtDNA. Der Grad der Heteroplasmie kann von Generation zu Generation durch die Selektion und darauf folgende Zunahme der mtDNA-Kopienzahl in der Embryonalentwicklung (mitochondrial bottleneck) sowie von Gewebe zu Gewebe variieren und bestimmt die Symptombenignung wesentlich mit. MELAS: mitochondriale Erkrankung.

Dr. Arztblatt Int Nov. 2021 Mitochondrial disorders. Klopstock T, Priglinger C, Vilmar A, Kornblum C, Distelmaier F, Prokisch H

Fallbeispiel 3: Patientin (56) mit Rückenschmerzen und diffusen Arthralgien

Anfrage durch Hausarzt: Hinweis für SE?

Anamnese:

- Seit Kindheit Schmerzen in Extremitäten, Rückenschmerzen, V.a. „Rheuma“; keine Gelenkschwellungen, keine Morgensteifigkeit
- vorbeschriebenes Antiphospholipid-Syndrom (Lungenembolie nach Appendektomie, 3 Fehlgeburten [1 gesunde Tochter]; zuletzt Lupusantikörper und Cardiolipin-Ak nicht mehr nachweisbar
- Osteoporose (pos. Familienanamnese) mit Nachweis von Deckplattenimpressionsfraktur im Bereich BWS und LWS
- Z.n. atraumatischen Stressfrakturen mit Knochenmarksödem im Bereich der Fußknochen bds.
- Nebendiagnose: Parodontitis, Migräne, Heuschupfen

Bisherige Diagnostik:

- Knochenmineraldichtemessung / DEXA: Osteopenie WS (T Score -2.0), Osteoporose SH (T Score -3.0) > Start Teriparatid; keine Bisphosphonate wg. Parodontose
- Ausschluss sekundäre Osteoporoseursachen (Schilddrüsen-, Sprue-Ak neg., Hormonstoffwechsel)
- Labor: AP normal (36 UI, untere Norm); bisherige humangenetische Diagnostik: kein Nachweis von Genpolymorphismen mit Relevanz für Osteoporose-Disposition (*COL1A1*-Gen, *VDR*-Gen, *IL6*-174G/C)

Überlegungen: Humangen. Diagnostik für monogene Ursachen einer Osteoporose (Pos. Familienanamnese: WK-Brüchen bei Mutter u. Großmutter) + Abklärung Hypophosphatasie (Stressfrakturen mit Knochenmarksödem, auffälliger Zahnschmelz, Migräne, allerdings AP niedrig-normal)

Ergebnis Molekulargenetischer Diagnostik (Paneldiagnostik Knochenstoffwechselstörung):

- heterozygote pathogene *ALPL*-Mutation > klin. vereinbar mit einer autosomal-dominanten adulten Hypophosphatasie (HPP)
 - heterozygote pathogene *LRP5*-Mutation > klinisch vereinbar mit einer autosomal-dominanten monogenen Osteoporose (homozygote Mutationen in *LRP5* (LDL-Rezeptor-Related Protein 5) sind assoziiert mit dem Osteoporose-Pseudogliom-Syndrom (OPPG) bei Kindern)
 - Nachgewiesene Kombination aus *ALPL*- und *LRP5*-Mutation bislang nicht vorbeschrieben
- Procedere:**
- Fortführung Teriparatidtherapie (rekombinantes Parathormonfragment > kann bei HPP zu Normalisierung der Serumaktivität der Alkalischen Phosphatase führen (Camacho et al., *Endocrin. Practic* 2016)
 - Ggf. Einzelfallstudien zum erfolgreichen Einsatz des monoklonalen Antikörpers gegen Sclerostin (bindet an *LRP5*-Rezeptor; Romosozumab: Seefried L et al., *J Clin Invest.* 2017; allerdings bislang keine klinische Daten bei Pat. mit heterozygoter *LRP5*-Mutation)
 - Anbindung an das Expertenzentrum Würzburg Prof. Seefried (keine Indikation Enzyersatz-Therapie); Regelm. Physiotherapie, symptom. NSAID /Naproxen, Zahnarzt, Ernährungstherapie (Ca / Vit D Haushalt), Ausschluss Nephrokalzinose
 - Segregationsanalyse bei der Mutter der Pat.:** Nachweis der *ALPL*-Mutation > Bestätigung einer autosomal-dominanten adulten HPP bei der Mutter der Patientin; kein Nachweis der Mutation im *LRP5*-Gen

Fallbeispiel 2: Patientin (52) mit progredienter Schwellung linke Hand /Arm, initial V.a. Lymphödem

Anfrage durch Hausarzt: Primäres Lymphödem? / lymphatische Malformation / DD „Yellow Nail Syndrom“

Anamnese: seit 2012 progrediente Schwellung li. Hand und Unterarm (nicht wegdrückbar, eher „federnd“)

- 2010 Gewichtsverlust und generalisierte Lymphadenopathie; im Verlauf Nachweis Toxoplasmoze
- 2011 interdigitale Verletzung bei Gartenarbeit, entzündet, verzögert ABX; kein Katzenbiss, kein Aquarium (DD Schwimmbadgranulom)
- 2013 Thrombozytose; KMP: kein Hinweis auf MPS; Zytogenetik: 46,XX, BCR-ABL neg, JAK-2 Mut. neg

Familienanamnese: 2 Söhne (22, 24 J., einer mit Psoriasis), Bruder: Neurodermitis, Bruder väterlicherseits (geb. 1921) taubstumm, weiterer Bruder väterlicherseits: CLL

Vorbefunde:

- Lymphszintigraphie: verzögerter Lymphabstrom der linken oberen Extremität; **MRT 2020:** massives subkutanes Ödem mit Abhebung der Sehnen des III. und IV. Extensorenkompartments am Handrücken. Muskulatur und Knochen unauffällig; **MRT neu:** ausgedehnte RF von kutan mit Ummauerung von Oberarmmusk., Unterarmmusk., Axilla, Arteria brachialis, ulnaris u. radialis; Punctum maximum: Hand; unauffälliges KM-Signal



Befund:

- dtl. Zunahme der Gewebemasse; Umfangsvermehrung Unterarm li: 32.5 cm vs re: 14 cm; Hand li: 36 cm vs re: 20 cm
- Kompressionsstrumpf li. Arm bis Schulter, MLD 2x Woche; bei Therapiepausen keine wesentliche Verschlechterung

Procedere in Absprache mit internem B-Zentrum vaskuläre Malformation (Leitung PD Dr. Kapp):
- Molekulargenet. Diagnostik (Paneldiagnostik lymphatische Malformationen) + Inzisionsbiopsie Handrücken

Ergebnis Paneldiagnostik EDTA-Blut: keine Sequenzveränderung in den für lymphatische Malformationen krankheitsrelevanten Genen

Inzisionsbiopsie Handrücken:

- Histologie: **benigne paucicelluläre myxoide Läsion mit ektatischen Lymphgefäßen**
- Molekularpathologische Nachuntersuchung: kein Nachweis von Bartonella oder Mykobakterien-DNA; Nachtestung Östrogenrezeptorexpression, (T5;8);(p15;q13) > *AHRR/NCOA2* Fusion > kein Hinweis auf Weichteil-Angiofibrom

Molekulargenetische Nachtestung (DNA-Blut und Hautbiopsie) hinsichtlich DD Keimbahnmutation / Abklärung Carney Complex (Neoplasie-Endokrinothrom-Syndrom), Typ1 Neurofibromatose (NF1, *PRKARIA*): keine pathogene Variante

WES läsionales Gewebe/Blut: Hinweis auf eine heterozygote somatische *TSC2*-Gendelektion in der Kopienzahlanalyse (*TSC2*: Tuberöse Sklerose Complex 2 -Gen; *TSC1* und *TSC2*-Mutationen führen zum Wachstum benigner mesenchymaler Tumore; DD sLAM: sporadische Lymphangioliomyomatose; nahezu ausschließlich bei Frauen in gebärfähigem Alter; diffuse Proliferation glatter Muskelzellen, zystische Destruktion des Lungengewebes, Angiomyolipom Niere); Befundrelevanz unklar, da kein Loss-of-Heterozygotie oder weitere Second-Hit-Mutation;

Nachuntersuchung via Mikroarray (läsionales Gewebe und Blut): kein Nachweis einer somatischen *TSC2*-Deletion und auch keine Deletion im Blut (Keimbahnposition) gefunden

Procedere Fallbesprechung Sarkomkonferenz: seltener benigner myxoider Tumor > chirurgische Intervention, Debulking; Rezidivrisiko aufgrund Seltenheit nicht sicher einzuschätzen

Überblick myxoide Weichteiltumore: heterogene Gruppe

- benigne Läsionen incl. Ganglion, synoviale Zysten bis hin zu hochgradig malignen Myxofibrosarkomen
- charakterisiert durch überschüssiges extrazelluläres myxoides oder chondromyxoides Matrixmaterial
- benigne myxoide Tumore können intramuskulär oder juxta-artikulär auftreten
- intra-muskuläre benigne Myxome (häufiger bei Frauen); in seltenen Fällen in Kontext von Carney complex (Neoplasie-Endokrinothrom Syndrom), fibröse Dysplasie, McCune Albright Syndrom (Knochenzyste, Endokrinothrom, Café-au-lait-Flecken, *GNAS*-Mutation in Mosaik)
- Feinnadelbiopsie mit charakteristischem Befund: hypocoellulär, vereinzelt Spindelzellen ohne Atypie, umgeben von myxoider Masse
- IHC: pos. für CD34, Aktin, Desmin (Skelettmuskulatur), neg.: Keratin, S100; DD-Abgrenzung: low grade Myxofibrosarcom, LG fibromyxoid sarcom

Therapie: Debulking; Rezidivrisiko aufgrund Seltenheit unklar

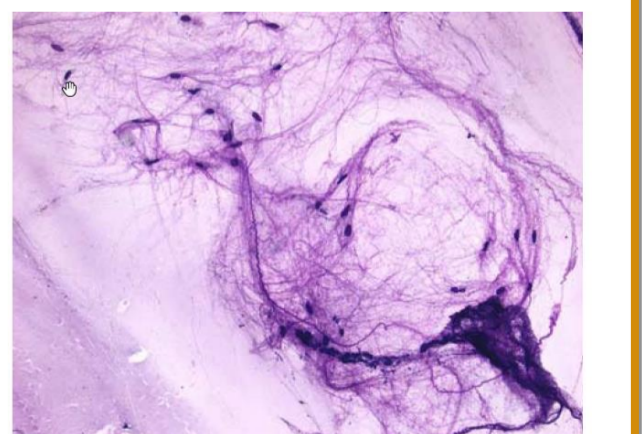


FIGURE 2. Myxoma. Fine needle aspiration of a thigh mass showing a hypocellular smear with abundant myxoid material and few spindle cells with bipolar cytoplasmic processes (Diff Quik, 20x). Please see this image in color online.

Fallbeispiel 4: Patientin (30) mit heftigen episodischen Unterbauchschmerzen seit 12 Lj.

Anfrage durch Gastroenterologen: Hinweis für SE?

Anamnese:

- Schon als Kind Übelkeit, Durchfall, Migräne, Schwindel; zahlreiche Medikamentenunverträglichkeiten
- Z.n. Tubensterilisation und Hysterektomie für fortbestehenden Dysmenorrhoeen u. initialem V.a. Endometriose / Verwachsungen
- Zwischendurch V.a. MCAS Mastzellmediatorsyndrom, nicht bestätigt; Ausschluss klonale Mastozytose

Bisherige Anlaufstellen und Diagnostik:

- Gastroenterologie, Gyn., Hämatologie, Allergologie, Epilepsiezentrum, Psychosomatik: „kein Hinweis auf psychosom. Ursache“
- Labor, Hormonlabor, Histamin, Serumtryptase, DAO, Ausschluss syst. / klonale Mastozytose, Abklärung Sprue, Porphyrie, M. Whipple, M. Fabry; kein C-1 Esterase-Inhibitormangel
- Ausschluss Truncus coeliacus –Kompressionssyndrom
- Kein Hinweis auf mitochondriale Myopathie oder metabolische Myopathie (adäquate Laktatkinetik unter aerober Belastung)

- Genomsequenzierung und Sequenzierung des Mitochondrialgenoms 2020: unauffälliger Befund

Überlegungen bei hohem Leidensdruck: DD hereditäres Angioödem Typ 3 mit GI-Beteiligung?

- Vorstellung im Süddeutschen Angioödemzentrum (ZSE Ulm)

- Durchführung Bradykinin-Aktivierungssays (Labor Basel/Grenoble): Aktivität normwertig

- kein Ansprechen auf Therapieversuch mit Firazyr/calcitriol i.R. einer notfallmäßigen station. Aufnahme

Procedere: Reevaluation im Magen-Darmambulanz:

- > Kriterien für Reizdarmsyndrom (vom Diarrhöetyp mit chologener Komponente) erfüllt
- > Besserung unter niedrig dosierten Cholestyramintherapie; >>> Überdiagnostik??

Kontakt für Patient*innen und Ärzt*innen:

E-mail: fzse.lotsin@uniklinik-freiburg.de; Telefon: 0761 270-77030; www.uniklinik-freiburg.de/fzse

Dr. Leonora Houet, Dr. Katalin Komlosi, FZSE